



## XXXV SALÃO de INICIAÇÃO CIENTÍFICA

6 a 10 de novembro

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2023: SIC - XXXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2023
<b>Local</b>	Campus Centro - UFRGS
<b>Título</b>	Otimização do protocolo de isolamento de vesículas extracelulares salivares com vistas à pesquisa de biomarcadores
<b>Autor</b>	ALINE RODRIGUES PARRA DE OLIVEIRA
<b>Orientador</b>	TIAGO DEGANI VEIT

Aluno: Aline Rodrigues Parra de Oliveira  
Orientador: Tiago Degani Veit

### Otimização do Protocolo de Isolamento de Vesículas Extracelulares Salivares com Vistas à Pesquisa de Biomarcadores

Vesículas extracelulares (VE) estão presentes em diversos fluidos biológicos e constituem potenciais fontes de biomarcadores informativos de diversas condições patológicas. A saliva é um biofluido de fácil obtenção, mas que apresenta alguns obstáculos para o isolamento de VE, como a presença de contaminantes. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um método de isolamento de vesículas extracelulares salivares com alto grau de pureza, visando a posterior análise de biomarcadores associados a doenças humanas. Para isolar as VE, as amostras de saliva foram centrifugadas a 2000 g e a 12000 g para remoção de células e microrganismos, ultracentrifugadas (100.000 g por 2h) com ou sem *cushion* de Optiprep 40% e então submetidas a cromatografia de exclusão de tamanho (CET). As frações coletadas foram analisadas por Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) e MicroBCA. As partículas recuperadas após a UC e nas frações 5 a 12 da CET mostraram distribuição de tamanho compatível com a de VE pequenas. A maioria das VE foi coletada nas frações 8 e 9, com uma quantidade ligeiramente mais alta de partículas recuperadas pela UC com *cushion* (CUC) em relação à UC simples. ( $5,42 \cdot 10^9/\text{ml}$  vs.  $4,65 \cdot 10^9/\text{ml}$ ). Ambos os métodos apresentaram elevada pureza em relação a saliva *in natura* (CUC:  $9,68 \cdot 10^7/\mu\text{g}$ , UC:  $9,53 \cdot 10^7/\mu\text{g}$  vs  $2,0 \cdot 10^6/\mu\text{g}$  de proteína). O uso de filtro de  $0,45\mu\text{m}$  previamente à UC não reduziu significativamente o número de partículas quantificadas nas frações de CET em relação à saliva não filtrada. Já o uso de filtro de  $0,22\mu\text{m}$  levou a uma redução significativa na recuperação de partículas por CET. Nossos resultados apontam para o método de CUC seguido de CET como um método eficiente para o isolamento de partículas compatíveis com VE com baixa contaminação proteica.